

THESIS

MUNICH

1965

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. M. Kiese

HEMMUNG DER CHROMODAKRYORRHOE UND DER BRADYCARDIE NACH
CARBAMINOYLCHOLINCHLORID DURCH CHOLINOLYTICA

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von
Alfons Georg Hofstetter
aus Burghausen a/d Salzach

München 1965

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. M. K i e s e

HEMMUNG DER CHROMODAKRYORRHOE UND DER BRADYCARDIE NACH
CARBAMINOYLCHOLINCHLORID DURCH CHOLINOLYTICA

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München

vorgelegt von
Alfons Georg Hofstetter
aus Burghausen a/d Salzach

München 1965

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Privat-Dozent Dr. A. H e r z
Mitberichterstatter:	Professor Dr. M. K i e s e
Dekan:	Professor Dr. R. Z e n k e r

Tag der mündlichen Prüfung: 5. Okt. 1965

INHALTSVERZEICHNIS:

	Seite
A. Einleitung	1 - 4
B. Methodik	5 - 10
I. Chromodakryorrhoe	5 - 9
II. Carbaminoylcholin-Bradycardie	9 - 10
Substanzen	11 - 13
C. Ergebnisse	14 - 36
I. Chromodakryorrhoe	14 - 18
II. Carbaminoylcholin-Bradycardie	19 - 36
1. Mittlere Herzfrequenz am unbehandelten Tier	19
2. Frequenzabfall nach Carbaminoylcholin	19 - 24
3. Beeinflussung der Herzfrequenz durch Cholinolytika	24 - 26
4. Beeinflussung der Carbaminoylcholin-Bradycardie durch Cholinolytika	27 - 30
5. Beeinflussung der Herzfrequenz durch Ephedrin	32
6. Ephedrin und Carbaminoylcholin-Bradycardie	32 - 33
7. Carbaminoylcholin-Bradycardie und Reserpin, Sympatikolytika und Ganglienblocker	34 - 36
D. Diskussion	37 - 48
I. Chromodakryorrhoe	37 - 48
II. Carbaminoylcholin-Bradycardie	39 - 43
III. Beziehung zwischen der relativen zentralen Wirksamkeit der Cholinolytika und ihrer Lipoidlöslichkeit	44 - 48
E. Zusammenfassung	49 - 51
F. Literaturverzeichnis	

A. EINLEITUNG

Cholinolytika wirken sowohl auf das zentrale als auch auf das periphere Nervensystem. Die zentrale Wirkung ist bei gewissen tertiären Aminen besonders ausgeprägt; die periphere Wirkung wird dagegen bei Substanzen mit tertiärer und quarternärer Struktur gefunden (Chen; Farquharson und Johnston; Karcsmar und Long; May und Mitarbeiter; Stoll und Jucker; Bein und Tripod; Herz).

Neuere Untersuchungen haben gezeigt, daß für die Wirkung einer Substanz auf das Zentralnervensystem der Verteilungskoeffizient Lipoid/Wasser der nicht ionisierten Substanz und der Grad ihrer Ionisation bei physiologischem pH wesentlich ist (Mayer, Maikel und Brodie; Brodie, Kurz und Schanker; Mark und Mitarbeiter; Firemark und Mitarbeiter; Rall und Mitarbeiter; Hansson und Schmitterlów; Kurz).

So erhob sich die Frage, ob Unterschiede im Verhältnis von zentraler zu peripherer Wirkung der Cholinolytika - insbesondere auch innerhalb der Gruppe der tertiären Amine - durch physiko-chemischen Eigenschaften erklärt werden können.

Zur Klärung dieser Frage sollte die zentrale und periphere Wirkung einer größeren Zahl cholinolytisch wirkender Substanzen untersucht und das Verhältnis ihrer zentralen zur peripheren Wirkung bestimmt werden. Außerdem war der Verteilungskoeffizient Heptan/Wasser der einzelnen Substanzen zu bestimmen und mit der relativen zentralen Wirkungsstärke in Beziehung zu setzen.

Im dieser Arbeit wurden die peripheren Wirkungen der Cholinolytika untersucht. Die Daten über die Wirkungen der Substanzen sollten dabei am Ganztier und nicht an isolierten Organen gewonnen werden.

Die peripheren cholinolytischen Wirkungen können untersucht werden an der mydriatischen Wirkung dieser Substanzen bei der Maus nach Pulewka, der Hemmung der durch Cholinomimetika (Freud; Figge; Tashiro und Mitarbeiter - 1940 a, b; Mendel und Hawkins; Burgen; Winbury und Mitarbeiter), bewirkten Chromodakryorrhoe an der Ratte, der Hemmung der durch Carbaminoylcholin bewirkten Bradycardie an der Ratte (Lenke) sowie der Hemmung der durch Cholinomimetika hervorgerufenen Salivation an der Katze (Bülbring und Daves).

Die Chromodakryorrhoe bei Ratten, die von Freud (1933) entdeckt wurde, läßt sich gut zur Testung von Cholinolytika verwerten.

Freud zeigte, daß die Injektion von Muscarin in entsprechender Dosierung bei Ratten eine Sekretion von rotbraunen Tränen hervorruft.

Tashiro, Badger und Jounker (1940) fanden, daß dieser rotbraune Farbstoff in Chloroform löslich ist und im Ultraviolettlicht eine deutliche Fluoreszenz erkennen läßt.

Figge (1945) wies spektrographisch nach, daß dieser Farbstoff hauptsächlich aus Protoporphyrin bei einem geringen Anteil an Koproporphyrin I besteht. Diese Porphyrine werden von der sog. Harderian Drüse ausgeschieden.

Derrien und Turchini (1924) entdeckten, daß diese Drüse Follikel besitzt, die von Zellen umgeben sind, deren Vakuolen denselben Farbstoff enthalten wie er in der rotbraunen Tränenflüssigkeit nachgewiesen werden kann. Harderian Drüsen besitzen nach Figge nur Ratten, Syrische Hamster und einige Mäusearten.

Tashiro, Smith und Kezur (1940) konnten nachweisen, daß Eserin die Menge Acetylcholin verringert, die erforderlich ist, eine deutliche Sekretion hervorzurufen. Mendel und Hawkins (1943) zeigten, daß bei Injektion von Cholinesterase die Sekretion durch Dosen, die sonst eine Chromodakryorrhoe hervorrufen, nicht ausgelöst wird.

Beim Bradycardie-Test wird die inhibitorische Wirkung von Cholinolytika, aber auch von Sympatikomimetika auf die durch Cholinomimetika ausgelöste Herzschlagverlangsamung bestimmt. Letzteres macht diese Methode zwar weniger spezifisch als den Chromodakryorrhoe-Test, doch ist dies praktisch von geringer Bedeutung, da die wirksamen Dosen, abgesehen von Adrenalin und Noradrenalin, sehr hoch liegen und die pressorische Wirkung der Substanzen eine Differenzierung ermöglicht. Der Bradycardie-Test, bei dem die Herzfrequenz nach Carbaminoylcholin mit Hilfe des EKG's bestimmt wird, wurde von Lenke (1961) zur Bestimmung der anticholinergischen Wirkung tertiärer Amine an narkotisierten Ratten beschrieben.

Da auch in den Versuchen über die zentrale Wirkung (Herz 1963, 1962) keine Narkose verwendet worden war, schien es zweckmäßig, sämtliche Versuche an nicht narkotisierten Tieren durchzuführen. Dies war nur möglich durch die Anfertigung einer besonderen Vorrichtung zur Fixierung der Tiere (siehe später). Beim Chromodakryorrhoe-Test, bei dem die durch Cholinomimetika bewirkte intensive Sekretion roter „Tränen“ getestet wird, sollte außerdem eine möglichst objektive und quantitative Auswertungsmethode gefunden werden.

B. METHODIK

Für die Untersuchungen wurden männliche Albinoratten verwendet. Zu Beginn der Versuche hatten sie ein Gewicht von 200 - 300 Gramm. Nach 8 - 10 Wochen, in denen die Tiere in acht- bis vierzehntägigem Abstand mehrmals verwendet wurden, betrug ihr Gewicht ca. 400 Gramm. Tiere, die dieses Gewicht überschritten hatten, wurden von den Versuchen ausgeschlossen.

Sämtliche Versuche wurden an nicht narkotisierten Tieren durchgeführt. Zur Fixierung wurden die Tiere in ein Kästchen aus Kunststoff von 15 cm Länge, 5 cm Breite und 7 cm Höhe gebracht. Die Längsseitenwände des Kästchens waren mit 10 cm langen und 1,5 cm breiten Schlitzfenstern versehen. An der Vorderwand war eine Öffnung für den Kopf des Tieres und an der Hinterwand ein durchgehender Schlitz für den Schwanz angebracht. Das Kästchen wurde oben durch einen mit Schanieren befestigten Deckel verschlossen.

Beim Chromodakryorrhoe-Test wurden 12 Tiere je Dosis, bei den Bradycardie-Versuchen 6 Tiere je Dosis verwendet.

I. Chromodakryorrhoe

Beim Chromodakryorrhoe-Test wurde als Cholinomimetikum Carbaminoylecholinchlorid verwendet. Die Substanzen, deren Wirkung auf die Chromodakryorrhoe geprüft werden sollte, wurden 30 Minuten vor der Carbaminoylecholinchlorid-Injektion intraperitoneal verabreicht. Sie waren logarithmisch abgestuft.

Nach intraperitonealer Injektion von 0,6 mg/kg Carbaminoylecholinchlorid (Carb.) kommt es 25 bis 30 Sekunden später zur Sekretion rotbrauner Tränen. Sie erreicht 3 - 5 Minuten post injektionem ihren Höhepunkt. Zu diesem Zeitpunkt wurde die Tränensekretion in folgender Weise bestimmt: in einem U-förmig gebogenen Glasröhrchen wurde bis zu einer Marke Sekretionsflüssigkeit angesaugt und anschließend, nach Verwerfen der ersten beiden Tropfen, ein Tropfen auf Filterpapier aufgetragen. Nach dem Antrocknen des Tropfens wurden die mehr oder weniger stark gefärbten Flecke mit vorher angefertigten Standardproben verglichen. Es wurde hierbei nach der folgenden Einteilung bewertet: (Abb. 1)

- a) klare, rotbraune Tränen, die als rotbraun gefärbte Flecke antrockneten, wurden als positiv (+) bewertet;
- b) schwach gefärbte Tränen oder milchig trübe, blaßrote Sekretion, welche nur ganz schwach gefärbte Flecke ergaben, wurden als (+) bewertet;

- c) farblose, klare Sekretion, die nach dem Antrocknen nur mehr kaum erkennbare Flecken hinterlassen hat, und das Fehlen von Tränen wurden als negativ (-) bewertet.

Folgende Abbildung zeigt Beispiele für die nach dieser Einteilung vorgenommene Bewertung der Tränensekretion.

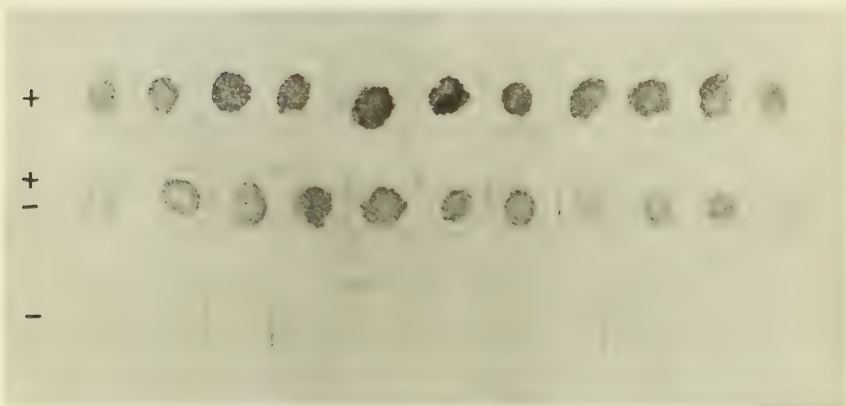


Abb. 1) Auf Filterpapier aufgetragene „Tränen“ nach Injektion von Carbaminoylcholinchlorid.

Beispiele für die Bewertung: +, $\pm$, - .

Die Auswertung der Wirksamkeit der Cholinolytika erfolgte nach der Methode von Litchfield und Wilcoxon. Es wurde die Dosis der Substanzen ermittelt, bei der die Hälfte der Tiere keine Chromodakryorrhoe mehr zeigte. Die als $\pm$ bewertete Tränensekretion wurde zur Hälfte als positiv und zur Hälfte als negativ bewertet.

Es zeigte sich, daß die Dosenwirkungsgeraden auf dem Wahrscheinlichkeitspapier bei einzelnen Substanzen nicht parallel laufen, sondern teilweise sogar erheblich in ihrer Steigung voneinander abweichen. Dies bedeutet aber, daß bei einem Vergleich der Wirkungen der einzelnen Substanzen die errechnete ED_{50} allein nicht als objektive Vergleichsmöglichkeit genügt. So haben z.B. UK 738 und Orphenadrin beinahe dieselbe ED_{50} , jedoch eine deutlich voneinander abweichende Steigung der Dosenwirkungsgeraden. Ich suchte nun nach einer Möglichkeit die Substanzen trotz unterschiedlicher Steigung der Dosenwirkungsgeraden miteinander vergleichen zu können.

Dabei ging ich von folgender Überlegung aus: Die Methode von Litchfield und Wilcoxon ergibt als Dosenwirkungskurve eine Gerade. Eine Gerade ist durch seine Steigung und einen Punkt $\frac{y}{x}$ einwandfrei bestimmt.

Es gilt also $tg \varphi = -\frac{Y}{X}$; wobei im Wahrscheinlichkeitsdiagramm die Werte für x und y durch den Schnittpunkt der Dosenwirkungsgeraden mit der Horizontalen durch Summenprozent ($\Sigma\%$) 50 gegeben

sind. Da nun hierbei y eine konstante Größe darstellt, ist die jeweilige Dosenwirkungsgerade durch das Produkt $\text{tg } \varphi \cdot x$ eindeutig bestimmt. Somit ist eine mathematisch einwandfreie Vergleichsmöglichkeit von Geraden mit verschiedener Steigung im Wahrscheinlichkeitsnetz gegeben.

II. Carbaminoylcholin - Bradycardie

Für die Bestimmung der Herzfrequenzen wurde ein EKG-Gerät (Cardioscript - Schwarzer) verwendet. Zur Fixierung wurden die Tiere in das oben beschriebene Kästchen gebracht. Durch die Schlitze des Kästchens wurde mit einer Pinzette die lockere Flankenhaut herausgezogen und die Nadelelektroden (aus V2A-Stahl) zur Ableitung der Aktionspotentiale im Abstand von ca. 5 cm hintereinander an der Flanke der Versuchstiere unter die Haut eingestochen. Die beiden Ableiteelektroden wurden auf der einen Seite, die Elektroden zur Erdung des Tieres auf der anderen Seite angebracht. Auf diese Weise war es möglich, das EKG an nicht narkotisierten und auch sonst offensichtlich nicht stärker beeinträchtigten Tieren abzuleiten.

Nach einer Beruhigungszeit von 5 - 10 Minuten wurde den Tieren die jeweils zu prüfende Substanz s.c. injiziert und die Herzfrequenz (Hf) alle 10 Minuten gemessen. Die Substanzen wurden in logarithmisch abgestuften Dosen gegeben.

30 Minuten später wurde Carb. verabreicht und die Hf während weiterer 15 Minuten jede Minute registriert. Zwischen der zweiten und dritten Minute nach Carb.-Injektion erreichte die Herzschlagverlangsamung ihr Maximum. Aus diesem Grunde wurde das Mittel der Werte für die zweite und dritte Minute zur Aufstellung einer Dosenwirkungskurve verwendet.

Cholinolytika heben die Carb.-Bradycardie auf. Der quantitativen Auswertung ihrer antagonistischen Wirkung wurde eine Herzfrequenz von 284/Minute zu Grunde gelegt. Diese Hf bedeutet eine Verdoppelung gegenüber 142/Minute nach alleiniger Injektion von 0,6 mg/kg Carbaminoylcholin. Die entsprechenden Dosen der Cholinolytika wurden aus den Dosenwirkungskurven durch Interpolation ermittelt.

Substanzen

Es wurde die cholinolytische Wirkung folgender Substanzen geprüft:

1. Atropin-sulfat
2. Atropin-methylnitrat (Eumydrin)
3. Hyoscyamin-hydrobromid
4. Skopolamin-hydrobromid
5. Skopolamin-methylbromid
6. Homatropin-hydrobromid
7. Tropinbenzilat-hydrochlorid (Be-Te)
- Verlapfarm, Tutzing -
8. Benztropin-methansulfonat (Cogentin)
- Merk Inst.for Ther.Res., West Point -
9. Pimetreid-hydrobromid
- Hoffmann, La Roche, Basel -
10. UK 738 (N-äthyl-nortropin-benzylhydroxyl-äther-hydrobromid)
- Sandoz, Basel -
11. Mydriatikum Roche
- Hoffmann, La Roche, Basel -
12. Caramiphen-hydrochlorid (Parpanit)
- Geigy, Basel -
13. Procyclidin-hydrochlorid
- Burroughs Wellcome and Co. ,
London -
14. Oxyphencyclimin-hydrochlorid (Daricon)
- Pfizer, Karlsruhe -
15. Orphenadrin-hydrochlorid (Disipal)
- Brocades-Stheeman,
Amsterdam -

16. Diphenhydramin-hydrochlorid (Benadryl)
- Parke, Davis und Co., München -
17. Aturban-hydrochlorid
- Ciba, Basel -
18. BS 6534 (Dimethylaminoäthyl-2-tributylbenzhydriäther-
hydrochlorid)
- Brocades-Stheeman, Amsterdam -
19. Benactyzin-hydrochlorid
- Medizinalco, Kopenhagen -
20. Kr 339 (2-Phenyl-bicyclo 2, 2, 1 - heptan-2-carbon-
säure - (diäthylaminopropylester) hydrochlorid
- Knoll AG, Ludwigshafen -

Weiterhin wurden in den Versuchen folgende Substanzen verwendet:

21. Ephedrin-hydrochlorid
22. Reserpin (Serpasil)
23. Mecamylamin-hydrochlorid
24. Regitin
25. Hexamethonium
26. Carbaminoylecholinchlorid

Die Gewichtsangaben beziehen sich jeweils auf die Base. Soweit nicht Ampullenlösungen zur Anwendung kamen wie bei Reserpin und Regitin wurden die Substanzen unmittelbar vor den Versuchen in 0,9% Kochsalzlösung frisch gelöst.

Beim Bradycardie-Test wurden die Substanzen subcutan, bei den Chromodakryorrhoe-Versuchen intraperitoneal injiziert.

Reserpin wurde 24 Stunden vor den Versuchen intramusculär gegeben.

C. ERGEBNISSE

I. Chromodakryorrhoe

Beim Chromodakryorrhoe (Ch) - Versuch kommt es 25 - 30 Sekunden nach intraperiotonealer Injektion von 0,6 mg/kg Carbaminoylcholinchlorid (Carb.) zur Sekretion rotbrauner Tränen. Diese erreicht nach 3 - 5 Minuten ihr Maximum und hält ca. 10 - 15 Minuten an.

Eine starke Salivation dünnflüssigen, glasklaren, zähen Speichels begleitet die Ch. Die Salivation setzt ca. 1 Minute nach der Carb.-Injektion ein und hält 20 - 25 Minuten an. Bei den Dosen der Cholinolytika, welche die Ch. vollkommen verhindern, ist die Salivation noch bei 85% der Tiere zu finden. Die gleichen Dosen von Carb., welche Tränen- und Speichelsekretion bewirken, rufen auch starke Diarrhoe hervor.

Abb. 2) zeigt die Dosenwirkungskurven der Cholinolytika nach der Methode von Litchfield und Wilcoxon. Die logarithmisch geteilte Abszisse gibt die Dosen der Cholinolytika in μ /kg an. Die nach dem Gauß schen Integral geteilte Ordinate gibt den Prozentanteil der Tiere an, die nach Gaben von Cholinolytika keine Chromodakryorrhoe mehr zeigten.

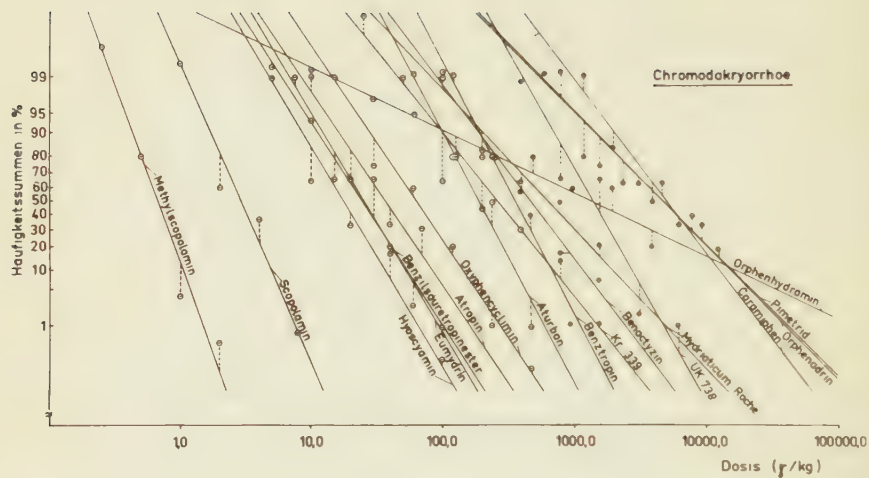


Abb. 2 Dosenwirkungsbeziehungen von Cholino-
lytika nach der Methode von Litchfield
und Wilcoxon.

Abszisse: Dosis (μ /kg)

Ordinate: Häufigsummen in %

Am stärksten wirksam ist Methylskopolamin. Es hemmt bei 2,0 γ /kg die Ch. praktisch vollständig. Skopolamin ist dagegen viermal schwächer wirksam. Atropin, Hyposcyamin, Atropinmethylnitrat und Benzilsäuretropinester können erst bei Dosen von 60 - 80 γ /kg die Ch. mit Sicherheit unterdrücken. Oxyphencyclimin hemmt die Ch. bei 250 γ /kg, während von Aturban hierzu die doppelte Menge erforderlich ist und von Benztropin die vierfache. Kr 339, Mydriatikum Roche, Benactyzin verhindern die farbige Tränensekretion bei Dosen von 1600 γ /kg, während Homatropin nur halb so stark wirksam ist und UK 738 nur ein Viertel der Wirkung besitzt. Die übrigen Substanzen, Orphenadrin, Caramiphen, Diphenhydramin, unterdrücken die Carb.-Wirkung nur in verhältnismäßig hohen Dosen, nämlich zwischen 20 - 40 mg/kg.

Die meisten, insbesondere die stärker wirksamen Substanzen weisen eine relativ steile Dosis-wirkungsgerade auf. So ergibt das arithmetische Mittel aus den Mittelwerten für S bei einer ED₅₀ bis 290 γ /kg einen Wert von 1,8, während der entsprechende Wert für die weniger wirksamen Substanzen bei 2,6 liegt. Es zeigte sich jedoch, daß auch einige der schwächer wirksamen Substanzen eine starke Steigung der Dosiswirkungsgeraden aufweisen.

Bei Diphenhydramin verlief die Dosiswirkungskurve besonders flach, d.h. der Wirkungsbereich dieser Substanz erstreckte sich von 2 γ /kg bis ca. 20 mg/kg. Bei Procyclidin und BS 6534 ergibt sich in den Dosenbereichen von 50 γ /kg bis 10 mg/kg nach der Methode von Litchfield und

Wilcoxon eine Gerade mit der Steigung 0, d.h. die Geraden verlaufen hier waagrecht. Bei diesen Substanzen nehmen nämlich die Wirkungen, ähnlich wie in den EKG-Versuchen, mit steigenden Dosen zu und ab, das bedeutet, daß in höheren Dosenbereichen plötzlich wieder eine farblose, ja sogar eine mittel bis stark rot gefärbte Tränensekretion einsetzt, während die Herzfrequenz absinkt. Bei weiterer Erhöhung der Dosis ist keine Tränensekretion mehr nachzuweisen und die Hf ist wieder erhöht.

Zur Überprüfung dieses Befundes wurden die Versuche, die mit 12 Tieren pro Dosis üblicherweise durchgeführt worden waren, drei Monate später mit 6 Tieren pro Dosis wiederholt. Das Ergebnis war ähnlich.

Bei der Verabreichung von Ephedrin konnte bis zu 40 mg/kg keine Beeinflussung der Chromodakryorrhoe beobachtet werden.

Die folgende Tabelle gibt die wirksamen
Dosen der geprüften Substanzen wieder.

Tabelle 1

Hemmung der Chromodakryorrhoe
durch Cholinolytika

	ED ₅₀ u. Vertrauens- grenze f. P=0,05 (γ /kg)	Steigung d. Dosen- wirkungsgeraden S (tg φ)	Produkt d. Mittelwerte ED ₅₀ $\times$ S
Methylskopolamin	0,64 (0,79-0,52)	1,45(1,67-1,26)	0,93
Skopolamin	2,85 (3,80-2,10)	1,65(2,03-1,35)	4,70
Hyoscyamin	17,25(24,70-12,0)	1,88(2,55-1,38)	32,43
Benzilsäure- tropinester	23,75(33,70-16,7)	1,87(2,43-1,44)	44,41
Atropinmethyl- nitrat	24,50(34,5-17,40)	1,83(2,47-1,35)	44,83
Atropin	34,00(48,6-23,80)	1,87(2,55-1,36)	63,58
Oxyphencyclimin	58,00(86,4-38,90)	1,67(2,63-1,32)	96,86
Aturban	190,00(252,7-142,8)	1,66(2,02-1,36)	315,40
Kr 339	290,00(464,0-181,0)	2,24(3,35-1,49)	649,60
Benztropin	370,00(499,0-274,0)	1,71(2,14-1,37)	632,70
Benactyzin	425,00(620,5-291,0)	1,96(2,63-1,46)	833,00
Mydriatikum Roche	475,00(726,8-310,3)	2,11(3,23-1,38)	1 002,25
Homatropin	690,0(1055,7-450,9)	2,55(4,34-1,50)	1 759,50
UK 738	1 380,0(1863,0-1022,0)	1,66(1,96-1,41)	2 290,80
Diphenhydramin	1 500,0(3000,0-750,0)	6,65(16,3-2,66)	9 975,00
Orphenadrin	3 800,0(5510,0-2621,0)	2,30(3,33-1,61)	8 740,00
Pimetremid	4 300,0(6450,0-2867,0)	2,50(4,30-1,43)	10 750,00
Caramiphen	4 700,0(6820,0-3240,0)	1,96(2,49-1,54)	9 212,00

II. Carbaminoylcholin-Bradycardie

1. Mittlere Herzfrequenz am unbehandelten Tier

Unmittelbar nach dem Anlegen der Elektroden zeigten die Tiere eine Herzfrequenz (Hf) von ca. 600/Minute. Fünf Minuten später ergab sich als Durchschnittswert von 500 Messungen eine Hf von 465 ($\pm$ 4,7)/Minute.

10 - 15 Minuten nach dem Anlegen der Elektroden wurde als Durchschnittswert von 500 Messungen eine Hf von 425 ($\pm$ 2,1) pro Minute ermittelt. Dieser Wert änderte sich auch nach 30 - 45 Minuten nicht mehr wirklich.

2. Frequenzabfall nach Carbaminoylcholinchlorid (Abb. 3)

Bereits 10 - 15 Sekunden nach der s.c. Injektion von Carb. (0,3 - 0,7 mg/kg) setzt die Herzschlagverlangsamung ein. Dabei kann man verschiedene, deutlich ausgeprägte Stadien unterscheiden. So kommt es bei entsprechender Dosierung von Carb. nach 1 Minute zu einem Stadium der Arrhythmie mit einer durchschnittlichen Hf von 170/Minute. Nach weiteren 1 - 2 Minuten wird dann das Maximum der Bradycardie mit einer Hf von 142/Minute erreicht. Dieses Stadium ist charakterisiert durch ziemlich regelmäßige, auf ein Drittel bis ein Viertel der Ausgangsfrequenz

verminderte Herzaktionen. Ab der dritten Minute werden diese beiden Stadien wieder rückwärts durchlaufen. Die Hf steigt hierbei ziemlich rasch auf einen mittleren Wert von 276/Minute an. Dieser wird nach 15 - 20 Minuten erreicht. Nun nimmt die Hf nur noch langsam zu und erreicht die Ausgangsfrequenz auch 60 Minuten später nicht.

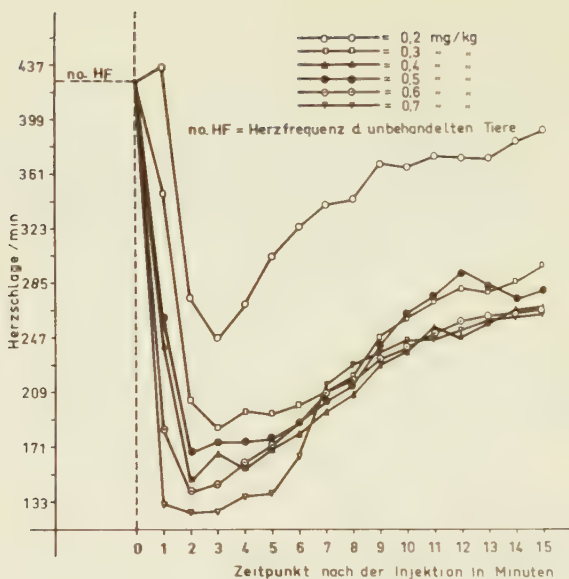


Abb. 3: Frequenzabfall nach Carbaminoylcholinchlorid in einem Dosenbereich von 0,2 - 0,7 mg/kg bei 15 Versuchen pro Dosis.
 Abszisse: Zeit in Minuten nach Carb.-Injektion
 Ordinate: Herzschläge pro Minute.

Nach Injektion von 0,3 - 0,5 mg/kg Carb. geht die Hf-verlangsamung meist nur in das Stadium der Arrhythmie über. Dies führte zu einem ungünstigen Bild der Häufigkeitsverteilung (Abb. 4a). Das bedeutete aber, daß - um eine möglichst geringe Streuung der Werte zu erhalten - für die Bradycardie-Versuche eine Carb.-Dosis gewählt werden mußte, die größer war als 0,3 - 0,5 mg/kg. So fand ich, z.B. bei einer Dosis von 0,5 mg/kg Carb. Frequenzen zwischen 120 und 240 pro Minute. 46% der Tiere zeigten eine Hf-verlangsamung, die über 170/min. gelegen ist. Das arithmetische Mittel der Werte für die 2. und 3. Minute nach Carb. bei einer Dosis von 0,5 mg/kg belief sich dabei auf 178,4/Minute gemessen an 50 Tieren.

Ein wesentlich günstigeres Bild der Häufigkeitsverteilung ergab sich nach Erhöhung der Carb.-Dosis auf 0,6 mg/kg (Abb. 4b), da hier mit Sicherheit das Stadium der gleichmäßig verlangsamten Hf in 98% der Versuche erreicht wurde. Bei einer weiteren Erhöhung der Carb.-Dosis auf 0,7 mg/kg konnte in jedem Fall dieses Stadium erreicht werden. So lag der Mittelwert für die Werte aus der 2. und 3. Minute nach 0,6 mg/kg Carb. bei 141/Minute, getestet an 50 Tieren. Der Frequenz-Bereich erstreckte sich dabei auf Werte zwischen 120 und 170/Minute. Da also offenbar bei einer Carb.-Dosis von 0,6 mg/kg die Streuung sehr gering ist, wurde für alle folgenden Versuche mit Ausnahme der Versuche mit Adrenolytika und Ganglienblocker diese Dosis verwendet.

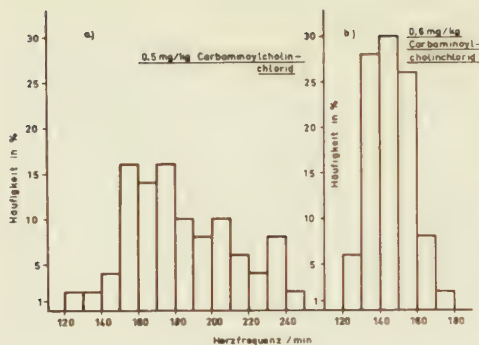


Abb. 4a: Häufigkeitsverteilung der Herzfrequenzen nach 0,5 mg/kg Carb. als Mittelwert aus 2. und 3. Minute.
Abszisse: Herzfrequenz;
Ordinate: Häufigkeitsverteilung in % (50 Versuche).

Abb. 4b: Häufigkeitsverteilung der Herzfrequenzen nach 0,6 mg/kg Carb. als Mittelwert aus 2. und 3. Minute.
Abszisse: Herzfrequenz;
Ordinate: Häufigkeitsverteilung in % (50 Versuche).

Bei Dosen von 0,2 mg/kg Carb. wurde das Stadium der Arrhythmie in keinem Fall überschritten; außerdem kehrte nur bei dieser Dosis die Hf nach 20 - 30 Minuten wieder zur mittleren Ausgangsfrequenz von 427/min. zurück (Abb. 3).

3. Beeinflussung der Herzfrequenz durch Cholinolytika

Die Auswertung der Herzfrequenz 20 Minuten nach Injektion der Cholinolytika (vor Injektion von Carbaminoylcholin) zeigte, daß nach Gaben, sowohl von stark, als auch schwach wirkenden Cholinolytika, keine bzw. nur bei sehr hoher Dosierung eine geringe Steigerung der Herzfrequenz zu erreichen ist. Bei dem Versuch Dosenwirkungskurven graphisch darzustellen erhält man völlig uncharakteristisch verlaufende Kurven. Es ist also nicht möglich, aus dem Verlauf der Dosenwirkungskurven eine Aussage zu machen, ob es sich um ein stark oder schwach wirkendes Cholinolytikum handelt (Abb. 5).

Abb. 5 a, b, c zeigen Beispiele der Dosenwirkungskurven einiger schwach und stark wirkender Cholinolytika, wobei die Messungen 20 Minuten nach der Injektion erfolgten.

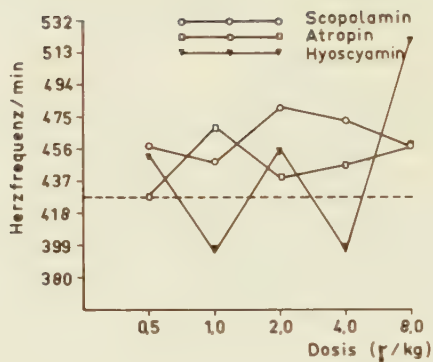


Abb. 5 a: Stark wirkende Cholinolytika und Herzfrequenzen;
 Abszisse: Dosis in $\mu\text{g}/\text{kg}$;
 Ordinate: Herzfrequenz/Min.
 Horizontale gestrichelte Linie:
 mittlere Herzfrequenz der Ratte
 (ermittelt aus 500 Versuchen).

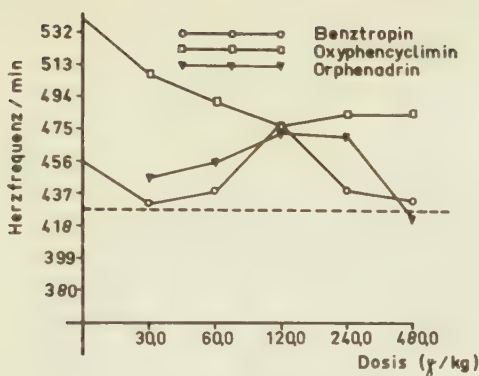


Abb. 5 b

Abb. 5 b, c: Schwächer wirksame Cholinolytika und Herzfrequenz;
 Abszisse: Dosis in g/kg;
 Ordinate: Herzfrequenz/Minute.
 Horizontale gestrichelte Linie: mittlere Herzfrequenz der Ratte (ermittelt aus 500 Versuchen).

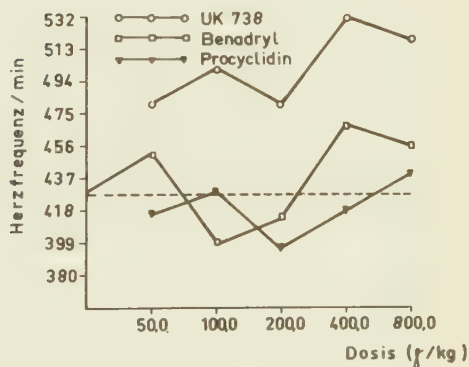


Abb. 5 c

4. Beeinflussung der Carbaminoylcholin-Bradycardie durch Cholinolytika

Ein Teil der untersuchten Cholinolytika hemmte die Carb.-Bradycardie schon in sehr kleinen Dosen. Dies zeigen die Dosenwirkungskurven der Abb. 6. Als am wirksamsten erwiesen sich Methyl-Skopolamin, Methyl-Atropin, Benzilsäuretropinester, Atropin und Skopolamin. Erst in höheren Dosen wurde die Carb.-Bradycardie durch die Substanzen beeinflusst, die in Abb. 7 zusammengestellt sind, doch liegt bei diesen noch eine deutliche Dosenabhängigkeit der Wirkung vor.

Bei einigen weiteren Substanzen wie Diphenhydramin, Procyclidin und BS 6534 ergab sich keine klare Dosenwirkungsabhängigkeit. (Abb. 8.)

Um die Wirkung der Substanzen ohne klare Dosenbeziehung nochmals zu überprüfen, wurden die Versuche mit BS 6534 fünf Monate später mit ähnlichen Ergebnissen wiederholt (siehe Abb. 8).

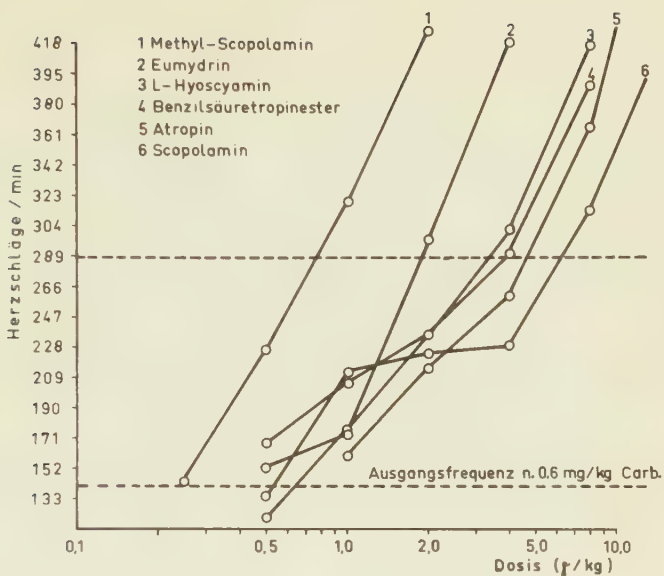


Abb. 6: Hemmung der Carbaminoylcholin-Bradycardie durch stark wirksame Cholinolytika.
 Abszisse: Dosis in $\mu\text{g/kg}$;
 Ordinate: Herzfrequenz/Minute.
 Untere horizontale Linie: mittlere Ausgangsfrequenz nach 0,6 mg/kg Carb.
 Obere horizontale Linie: Testfrequenz für die Wirksamkeitsermittlung der Cholinolytika.

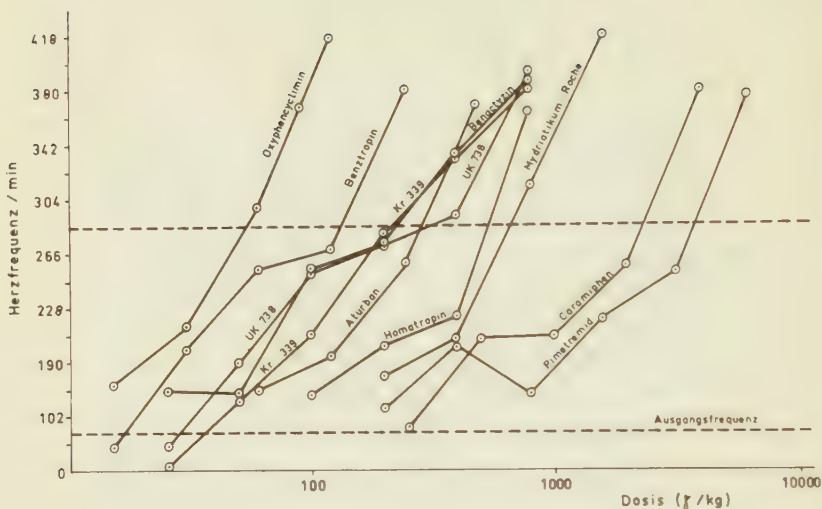


Abb. 7: Hemmung der Carbaminoylecholin-Bradycardie durch schwächer wirkende Cholinolytika.
 Abszisse: Dosis in g/kg;
 Ordinate: Herzfrequenz/Min.
 Untere horizontale Linie: Ausgangsfrequenz nach 0,6 mg/kg Carb.
 Obere horizontale Linie: Testfrequenz für die Wirksamkeitsermittlung der Cholinolytika.

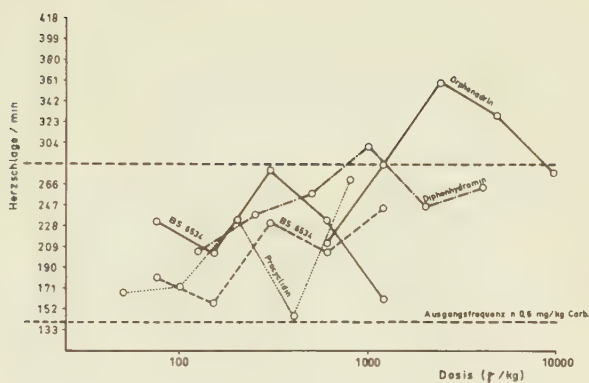


Abb. 8: Hemmung der Carbaminoylcholin-Bradycardie durch Methoxyphenyläthylamin-Derivate.
 Abszisse: Dosis $\mu\text{g/kg}$;
 Ordinate: Herzfrequenz/Min.
 Untere horizontale Linie: Ausgangsfrequenz nach 0,6 mg/kg Carb.
 Obere horizontale Linie: Testfrequenz für die Wirksamkeitsermittlung der Cholinolytika.

In der folgenden Tabelle sind die durch Interpolation der Dosenwirkungskurven sich ergebenden, einer Herzschlagfolge von 284/Minute entsprechenden Dosen wiedergegeben. Diese Herzfrequenz bedeutet eine Verdoppelung gegenüber 142/Minute nach alleiniger Injektion von 0,6 mg/kg Carb.

Tabelle 2)

Hemmung der Carbaminoylcholin-

Bradycardie durch Cholinolytika.

Effektivdosen, welche die Carb.-Bradycardie auf die Hälfte verringern.

Effektivdosen (μ g/kg)

Methyl-Skopolamin	0,8
Atropinmethylnitrat	1,9
Hyoscyamin	3,4
Benzilsäuretropinester	3,9
Atropin	4,7
Skopolamin	6,2
Oxyphenacyclimin	54,0
Benztropin	130,0
Kr 339	215,0
Benactyzin	230,0
Aturban	280,0
UK 738	330,0
Homatropin	540,0
Mydriatikum Roche	660,1
Orphenadrin	1 200,0
Caramiphen	2 350,0
Pimetremid	3 900,0

Der Verlauf der Dosenwirkungskurven bei BS, Procyclidin und Diphenhydramin verbietet eine Aufnahme dieser Substanzen in diese Tabelle.

5. Beeinflussung der Herzfrequenz durch Ephedrin.

Ephedrin führte bei einer Dosis von 0,625 mg/kg zu einer Erhöhung der Herzfrequenz von 425/Min. auf 500/Minute. Bei weiterer Erhöhung der Dosis sank die Hf gleichmäßig ab. So lagen die Werte der Hf nach 1,25 mg/kg; 2,5 mg/kg und 5 mg/kg um 475/Min. Eine Erhöhung der Ephedrindosis auf 10 mg/kg ließ die Hf weiter auf 450/Min. absinken. Eine weitere Steigerung der Dosis auf 20 mg/kg und 40 mg/kg hatte eine Herzschlagverlangsamung auf 440/Min. zur Folge.

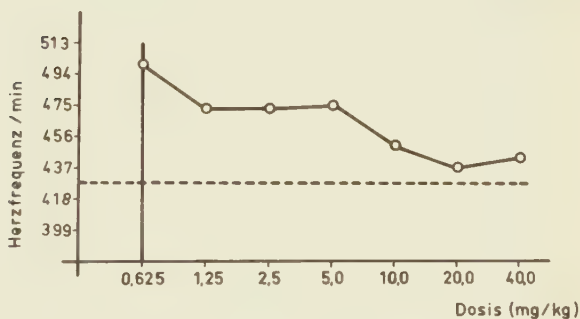


Abb. 9: Beeinflussung der Herzfrequenz durch Ephedrin
20 Min. nach der Injektion.
Abszisse: Dosis in mg/kg;
Ordinate: Herzfrequenz/Minute.
Horizontale Linie: mittlere Herzfrequenz der
Ratte (ermittelt aus 500 Versuchen).

6. Ephedrin und Carbaminoylcholin-Bradycardie

Nicht nur Cholinolytika, sondern auch adrenerge Substanzen vermögen die Carb.-Bradycardie zu hemmen. Dies ist schon von Lenke gezeigt worden. Es wird zwar dadurch die Spezifität der Methodik zur Testung der Wirksamkeit von Cholinolytika etwas eingeschränkt, was aber praktisch ohne Bedeutung ist, da adrenerge Substanzen, mit Ausnahme von Nor- und Adrenalin, die Carb.-Bradycardie nur in relativ hohen Dosen zu hemmen vermögen und die pressorische Wirkung der Adrenergika eine Differenzierung gestattet (Lenke).

Bei unseren Versuchen zu dieser Frage, wobei Ephedrin verwendet wurde, zeigte sich, daß bis zu 10 mg/kg Ephedrin, ähnlich wie bei einer Reihe schwach wirksamer Cholinolytika, keine befriedigende Dosenwirkungsbeziehungen bestanden. Bei weiterer Erhöhung der Dosis auf 20 mg/kg Ephedrin stieg die Herzfrequenz von 230/Min. auf 260/Min. an. Bei einer Dosis von 40 mg/kg Ephedrin erhöhte sich die Herzschlagfolge auf 283/Min.

Die folgende Abbildung zeigt die Dosenwirkungskurve von Ephedrin nach 0,6 mg/kg Carb. als Ergebnis der Mittelwerte für die zweite und dritte Minute nach Carb.-Injektion.

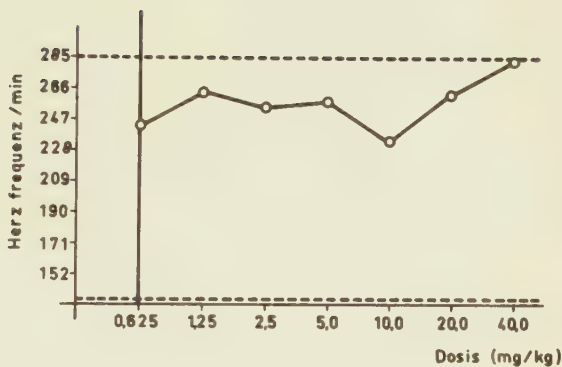


Abb. 10: Abszisse: Dosis in mg/kg
 Ordinate: Herzfrequenz/Minute
 Untere horizontale Linie: Ausgangsfrequenz
 nach 0,6 mg/kg Carbaminoylcholin.
 Obere horizontale Linie: Testfrequenz für
 die Wirksamkeitsermittlung der Cholinolytika.

7. Versuche über die Beeinflussung der Carbaminoylcholin-Bradycardie durch Reserpin, Sympatikolytika und Ganglienblocker

Der schon wenige Minuten nach Injektion von Carbaminoylcholin einsetzende Rückgang der Herzschlagverlangsamung ließ vermuten, daß hier eine Gegenregulation einsetzt, welche die Herzschlagfolge wieder schneller werden läßt. Es war hier vor allem an adrenerge Mechanismen zu denken. Um hierüber gewissen Vorstellungen zu gewinnen, wurden Versuche mit Reserpin, Sympatikolytika und Ganglienblocker durchgeführt.

A. Reserpin.

Reserpin führt zu einer Verarmung des Organismus an biogenen Aminen (Muscholl; v. Euler; Schümann und Kroneberg). Es wurde daher erwartet, daß nach Reserpinvorbehandlung die über die Freisetzung von Catecholaminen bewirkten Gegenregulationen ausbleiben.

An 20 Ratten wurden 2,5 mg/kg Reserpin intramuskulär verabfolgt. 24 Stunden später waren die Tiere auffallend schläfrig, reagierten jedoch sehr lebhaft auf Kneifen mit einer Pinzette. Auffällig war ein Gewichtsverlust von 30 - 40 g, das sind ca. 10% des Körpergewichts. Die mittlere Herzschlagfrequenz, 5 Minuten nach Anlegen der Elektroden, betrug 333/Min. gegenüber 465/Minute bei Kontrolltieren. Nach Injektion von Carb. kam es ebenfalls zu einer starken Herzschlagverlangsamung. Diese blieb aber, im Gegensatz zu Tieren, die kein Reserpin, sondern nur Carb. erhalten hatten, über Stunden bestehen. (Abb. 11.)

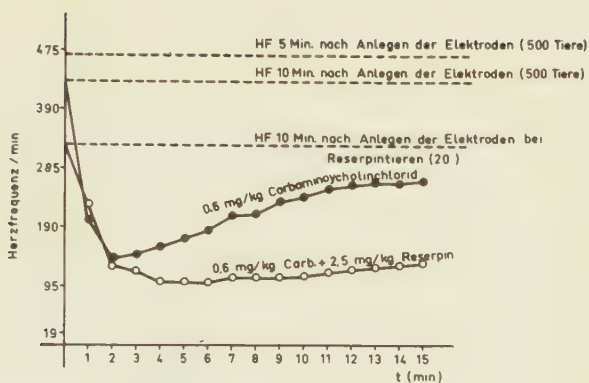


Abb. 11: Carbaminocholin-Bradycardie bei reserpinisierten Tieren.

Abszisse: Zeitpunkte nach Carb.-Injektion/Min.

Ordinate: Herzfrequenz in Minuten.

Hf = Herzfrequenz.

Obere gestrichelte horizontale Linie: mittlere Hf der unoperierten Ratte 5 Min. nach Anlegen der Elektroden (500 Versuche). Mittlere gestrichelte horizontale Linie: mittlere Hf der unoperierten Ratte 10 Min. nach Anlegen der Elektroden. Untere gestrichelte horizontale Linie: mittlere Hf der reserpinisierten Ratte 10 Min. nach Anlegen der Elektroden (20 Versuche).

B. Sympatikolytika und Ganglienblocker.

In den Versuchen, bei denen 20 mg/kg Hexamethonium bzw. 20 mg/kg Regitin vor Carb. gegeben wurden, zeigte sich eine beträchtliche Erhöhung der Toxizität für Carb.

Selbst bei einer Verminderung der Dosis auf 0,4 mg/kg kam noch ein Teil der Tiere ad exitum. 0,3 mg/kg wurden durchwegs überlebt. Bei dieser Dosis setzte der Abfall wie auch der Anstieg der Herzfrequenz langsamer ein als bei Kontrolltieren.

Wurde der Ganglienblocker Mecamylamin zusammen mit Regitin (jeweils 20 mg/kg) verabfolgt, kam es schon vor der Carb.-Injektion zu einer starken Verminderung der Herzfrequenz, die durch Carb. nicht mehr weiter verstärkt wurde. Auch hier kamen einige Tiere ad exitum.

Wegen der offensichtlich hohen Toxizität des Carbaminoylcholinchlorids bei gleichzeitiger Gabe von Sympatikolytika und Ganglienblockern wurden diese Versuche nicht weitergeführt.

D. DISKUSSION

I. Chromodakryorrhoe

Die Versuche zeigen, daß die Hemmung der durch Carbaminoylcholin bewirkten Chromodakryorrhoe eine brauchbare Methode zur Testung von Cholino-lytika am Ganztier darstellt. Die Methode ist einfach in der Durchführung und eine größere Anzahl von Versuchstieren kann ohne größeren methodischen Aufwand getestet werden. Durch die angegebene Verwendung von Standardfarbflecke war eine zumindest teilweise Objektivierung des Ergebnisses möglich. Kleinere subjektive Ablesefehler dürften bei der Steilheit der Dosenwirkungsbeziehung und der Möglichkeit breite Versuchsreihen anzusetzen nicht sehr ins Gewicht fallen.

Ein Vorteil gegenüber dem Bradycardie-Test besteht darin, daß offenbar keine stärkeren Gegenregulationen auftreten. Nach Lenke soll der Bradycardie-Test dem Chromodakryorrhoe-Test an Empfindlichkeit überlegen sein. Bei den Gegebenheiten unserer Versuche und unserer Wirksamkeitskriterien war hingegen der Bradycardie-Test dem Chromodakryorrhoe-Test teilweise an Empfindlichkeit unterlegen oder zumindest gleichwertig. So wurde die Chromodakryorrhoe durch Skopolamin, Methyl-Skopolamin, Aturban, Orphenadrin und Mydriaticum Roche in kleineren Dosen gehemmt als die Carbaminoylcholin-Bradycardie. Homatropin, Diphenhydramin, Oxyphencyclimin, Pimetremid und Kr 339 hemmten bei unseren Versuchen die Chromodakryorrhoe und die Carbaminoylcholin-Bradycardie gleich stark.

Die Aufhebung der Chromodakryorrhoe durch Cholinolytika ist relativ spezifisch. Die Carb.-Bradycardie hingegen kann auch durch andere Substanzen, z.B. durch Sympatikomimetika stärker beeinflusst werden. So konnte bei unseren Versuchen die Carb.-Bradycardie durch Ephedrin, allerdings bei der sehr hohen Dosis von 40 mg/kg bei 90% der Versuchstiere unterdrückt werden, während die Chromodakryorrhoe durch Ephedrin in diesen Dosenbereichen noch keinerlei Beeinflussung zeigte.

Bei den schwach wirksamen Cholinolytika wie BS 6534 und Procyclidin wurde weder beim Chromodakryorrhoe-Test noch beim Bradycardie-Test befriedigende Dosiswirkungskurven erhalten. Die Beobachtung, daß nach Erhöhung der Dosis bei diesen Substanzen die Chromodakryorrhoe wieder auftritt, während gleichzeitig die Herzfrequenz wieder abnimmt, d.h. in gewissen Dosenbereichen sogar eine Wirkungsumkehr beobachtet werden konnte, ist bemerkenswert. Man kann hier vermuten, daß solche Substanzen, in Abhängigkeit von der Dosis, sowohl cholinomimetische als auch cholinolytische Wirkungen besitzen.

Auf ähnliche Verhältnisse ist bei anderen Stoffgruppen von Ariens hingewiesen worden.

II. Bradycardie-Test

Auch mit Hilfe des Bradycardie-Testes konnte bei der Mehrzahl der Cholinolytika eine relativ steile Dosenwirkungskurve gewonnen werden; hierbei war es möglich unter Verwendung der angegebenen Methode an nicht narkotisierten Tieren zu arbeiten, was gegenüber der von Lenke geübten Verwendung narkotisierter Tiere zweifellos Vorteile bietet.

Auch diese Methode bedarf keines großen experimentellen Aufwandes und kann daher in größeren Versuchsreihen durchgeführt werden.

Ein Nachteil des Bradycardie-Testes ist darin zu sehen, daß die Herzfrequenz offenbar sehr stark Gegenregulationsmechanismen unterworfen ist, so daß die Dosenwirkungskurven, vor allem bei den schwach cholinolytisch wirkenden Substanzen starke Schwankungen in ihrem Verlauf zeigen.

Dem Organismus stehen zur Regulierung seines Kreislaufs mechanische, chemische, hormonelle, nervöse, und psychische Mechanismen zur Verfügung.

Bei der Diskussion der Probleme, die sich aus dem Verlauf der Dosenwirkungskurven ergeben, dürften bei unseren Versuchen am Ganztier, vor allem die mechanischen und hormonellen Reglerkreise (R.Wagner) eine entscheidende Rolle spielen. Eine Erhöhung des mittleren Blutdruckes bewirkt eine Erregung der

Pressorezeptoren des Aortenbogens und des Sinus caroticus. Über die Gefäßzentren der Medulla wird dadurch eine Bradycardie ausgelöst. Ebenso finden sich im Herzen selbst, wahrscheinlich in den Ventrikelnwänden und Coronararterien, Rezeptoren, die auf zahlreiche Gifte und mechanische Einwirkungen ansprechen und eine Hemmung der Herzfrequenz und Blutdrucksenkung bewirken (Bezold-Jarisch-Reflex).

Andererseits besitzt bekanntlich der rechte Vorhof und die herznahen großen Venen Rezeptoren, die bei erhöhtem Blutangebot und einer damit verbundenen stärkeren Dehnung eine Zunahme der Herzfrequenz herbeiführen (Bainbridge-Reflex).

Von den in Frage kommenden hormonellen Mechanismen ist in erster Linie die Freisetzung von Catecholaminen aus dem Nebennierenmark, den Endigungen des sympathischen Nervensystems und den chromaffinen Zellen verschiedener Organe und Gewebe zu erwähnen. So führt die Freisetzung von Noradrenalin an den sympathischen Nervenendigungen zu einer Erhöhung des mittleren Blutdruckes. Dies ist darauf zurückzuführen, daß es unter Noradrenalin infolge der Vasokonstriktion zu einer Erhöhung des peripheren Kreislaufwiderstandes kommt. Der Anstieg des mittleren Blutdruckes bewirkt aber über die Pressorezeptoren des Sinus caroticus und des Aortenbogens eine Herzschlagverlangsamung (Hess, Koch). Bei Adrenalin, das vor allem vom Nebennierenmark in den Blutstrom sezerniert wird (Gaddum und Holzbauer), kommt es infolge einer Dilatation gewisser Gefäßgebiete bei kaum erhöhtem mittleren Blutdruck zu einer Steigerung der Herzfrequenz.

Die in unseren Untersuchungen nach dem initialen Herzfrequenzabfall nach Carbaminoylcholinchlorid beobachtete Herzfrequenzsteigerung dürfte sowohl über eine direkte Beeinflussung der Pressorezeptoren infolge der allgemeinen Vasodilatation, als auch über eine Freisetzung von Catecholaminen als gegenregulatorische Maßnahme zustande kommen.

Stille konnte nach Injektion von Carbaminoylcholin eine Steigerung der Herzfrequenz nach allgemeiner Vasodilatation beobachten.

Nach Møller führt die Injektion von 10 mg/kg Metacholin beim Menschen durch Beeinflussung der Pressorezeptoren zu einer Erhöhung der Pulsfrequenz. Andererseits wurde nach Metacholin auch eine erhöhte Freisetzung von Noradrenalin aus dem Nebennierenmark und den sympathischen Nervenendigungen beobachtet (Perl et al., Elmadjian et al.,). Page und Stone stellten eine Freisetzung pressorischer Substanzen aus den Nebennierenmark nach Injektion von Tetraäthylammoniumbromid fest.

Wie unsere Versuche zeigten, tritt eine Herzschlagverlangsamung bereits bei Dosen von 0,2 mg/kg Carb. ein. Jedoch nur bei Dosen über 0,5 - 0,7 mg/kg Carb. wird das Stadium der gleichmäßigen, verlangsamten Herzschlagfolge in hohem Prozentsatz erreicht. Da es in den Dosenbereichen von 0,2 - 0,5 mg/kg Carbaminoylcholinchlorid zu gehäuften Arrhythmien und ungleichmäßigen Herzfrequenzabfall kommt, entsteht in diesem Dosenbereich - im Gegensatz zu Dosen über 0,5 mg/kg Carb. - ein ungünstiges Verteilungsbild (Abb. 4 a, b).

Außerdem ließ sich zeigen, daß nach 0,6 und 0,7 mg/kg Carb. die Herzfrequenz nicht nur am stärksten abfällt, sondern auch wieder schneller bis zu einem mittleren Wert von 280/Min. ansteigt als bei Dosen zwischen 0,2 und 0,5 mg/kg Carb. Dies ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Gegenregulationsmechanismen mit einer Herzfrequenzsteigerung nach kurzer Bradycardie bei niedrigerer Dosierung von Carb. nicht so heftig und gleichmäßig ausgelöst werden, wie das nach höheren Dosen von Carb. der Fall ist.

Die Tatsache, daß man nach BS 6534, Diphenhydramin, Orphenadrin und Procyclidin eine Dosenwirkungskurve mit uncharakteristischer Dosenwirkungsbeziehung bekommt, gab zu der Erwägung Anlaß, ob diese Verläufe der Dosenwirkungskurven nicht mit physikalisch-chemischen Eigenschaften der Substanzen zusammenhängen. Es ist nämlich auffällig, daß die uncharakteristischen Dosenwirkungsbeziehungen bei Substanzen besonders ausgeprägt sind, die eine bestimmte chemische Struktur, nämlich ein Methoxyphenyl-äthylamin-Skelett und einen hohen Verteilungskoeffizienten Heptan/Wasser aufweisen. Ein ähnliches Verhalten konnte bei Substanzen mit atropinähnlicher Struktur und niedrigem Verteilungskoeffizienten niemals nachgewiesen werden.

Asher (1941) beobachtete, daß oberflächenaktive Stoffe, also Substanzen mit einem hohen Verteilungskoeffizienten (z.B. Caprylalkohol, Cholsäure, Netzmittel), die Wirkungen von Adrenalin und Acetylcholin in vitro umkehren.

So konnten am isoliert durchströmten Kaninchenohr, am isolierten Uterus, Darm usw. zweiphasige oder „paradoxe“ Acetylcholin-Wirkungen beobachtet werden. Eine gewisse Parallele zu den Versuchen von Asher ergäbe sich bei unseren Substanzen mit „unklarer Dosenwirkungsbeziehung“ insofern, als die Substanzen, die einen hohen Verteilungskoeffizienten aufweisen, - unter Berücksichtigung einer bestimmten chemischen Struktur - , nach Carbaminoylcholin ebenfalls „paradoxe“ Kurvenverläufe zeigen.

Reserpin führt zu einer starken Herabsetzung des Gehaltes an biogenen Aminen - Noradrenalin, Adrenalin, 5-Hydroxytryptamin - im Körpergewebe (Schümann, Kroneberg). Da Noradrenalin die Überträgersubstanz des 2. Sympathischen Neurons ist, kommt es nach Reserpin zu einer reversiblen und elektiven Sympathikusausschaltung (Muscholl, v. Euler). Dies erklärt die Beobachtung, daß nach Carb. bei reserpinisierten Tieren die Herzfrequenz nicht nur ungehindert abfällt, sondern auch der gegenregulatorische Wiederanstieg, der wenigstens z.T. über sympathische Mechanismen verläuft, längere Zeit verhindert wird. Diese Beobachtung spricht auch dafür, daß bei dem schnellen Wiederanstieg der Herzfrequenz nach Carb. die Gegenregulation durch Ausschüttung biogener Amine eine entscheidende Rolle spielt.

III. Beziehung zwischen der relativen zentralen Wirksamkeit der Cholinolytika und ihrer Lipoidlöslichkeit.

Wie schon in der Einleitung erwähnt, sollte die Aufgabe dieser Arbeit, die Bestimmung der peripheren cholinolytischen Wirkung einer Reihe von Substanzen den Vergleich mit ihrer zentralen cholinolytischen Wirkung ermöglichen. Das Verhältnis der zentralen zur peripheren cholinolytischen Wirksamkeit dieser Substanzen, d.h. die „relative“ zentrale cholinolytische Wirkung sollte dann zu der Lipoidlöslichkeit dieser Körper in Beziehung gesetzt werden.

Als zentrale cholinolytische Wirkung der Testsubstanzen wurde die Vertiefung des Morphinstupors (HERZ 1963) an der Ratte, sowie der Hemmung der Arecolin-Analgesie (HERZ 1962) an der Maus untersucht. Das Ergebnis dieser von Herrn Dr. Herz durchgeführten Untersuchungen ist in der folgenden Tabelle wiedergegeben. Es sind die in diesen Versuchen bestimmten Effektivdosen zusammen mit den im Chromodakryorrhoeversuch ermittelten wirksamen Dosen zusammengestellt. Aus diesen Daten ist dann das Verhältnis der zentralen zur peripheren Wirksamkeit der Substanzen errechnet worden.

Tabelle A

Vertiefung d. Morphin- stupors ED ₅₀ (mg/kg)	Anti-Areco- lin Wirksam- keit ED ₅₀ (mg/kg)	Hemmung d. Chromodakry- orrhoe ED ₅₀ (mg/kg)	Verhältnis zentral/peri- pherer Wirk- samkeit
Ratte	Maus	Ratte	Ratte/R. Maus/Ratte
Methylatropin > 35	25,0	0,025	<0,0007 0,001
Hyoscyamin 1,73	0,33	0,017	0,0098 0,05
Skopolamin 0,14	0,067	0,0029	0,02 0,043
Methylskopolamin	6,80	0,00064	0,0009
Homatropin	4,0	0,69	0,17
Benzilsäure- tropinester	0,43	0,023	0,053
Benztropin 1,97	0,95	0,37	0,19 0,39
UK 738	0,8	1,38	1,7
Pimetremid	11,2	4,30	0,38
Hydriaticum Roche	5,0	0,45	0,093
Caramiphen 6,40	2,14	4,70	0,73 2,2
Oxyphencyclimin	28,0	0,058	0,002
Orphenadrin > 35	11,0	3,8	<0,11 0,35
Aturban 13,4	4,8	0,19	0,014 0,04

Als Maß der Lipoidlöslichkeit der Substanzen wurde der Teilungskoeffizient Heptan/Wasser bestimmt. Diese Untersuchungen wurden von Herrn Teschemacher durchgeführt. Die ermittelten Teilungskoeffizienten gibt die folgende Tabelle wieder.

Tabelle B:

Methylatropin	0,000001	
Skopolamin	0,0044	($\pm$ 0,0002)
Methylskopolamin	0,000001	
Homatropin	0,001	($\pm$ 0,00005)
Benzilsäuretropinester	0,18	($\pm$ 0,004)
Benztropin	2,4	($\pm$ 0,2)
UK 738	14	($\pm$ 0,4)
Pimetremid	0,01	($\pm$ 0,0003)
Mydriaticum Roche	0,02	($\pm$ 0,0004)
Caramiphen	213	($\pm$ 9)
Oxyphencyclimin	0,00032	($\pm$ 0,00001)
Orphenadrin	31	($\pm$ 1,0)
Aturban	0,0013	($\pm$ 0,00006)

In der folgenden Abb. 12 ist das Verhältnis der zentralen zur peripheren Wirksamkeit, d.h. die relative zentrale Wirkung dieser Substanzen mit ihrem Teilungskoeffizienten in Beziehung gesetzt.

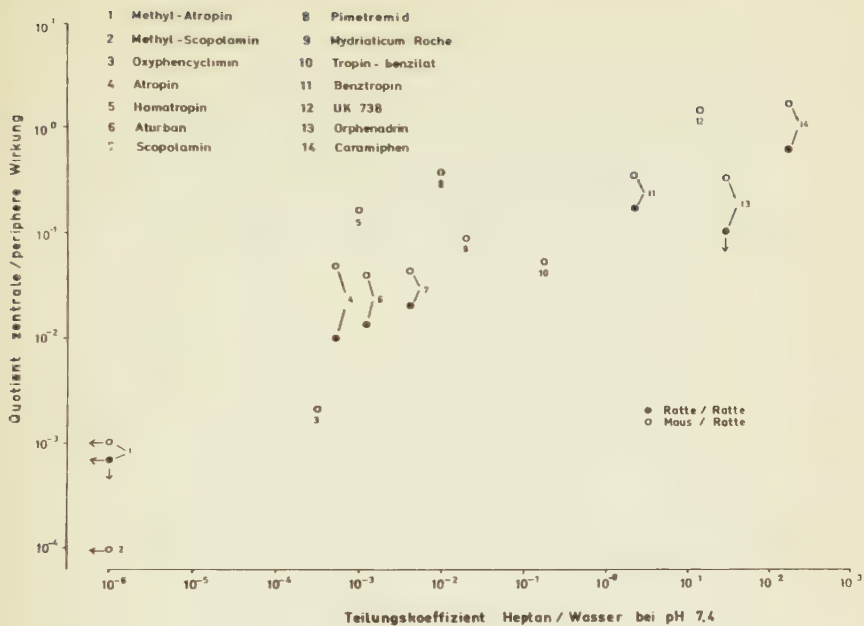


Abb. 12: Beziehung zwischen dem Verhältnis zentrale/periphere cholinolytische Wirkung und dem Verteilungskoeffizienten Heptan/Wasser bei P_H 7,4. Es sind die Werte der Tabelle A und B zugrunde gelegt.

Die Abb. 12 zeigt direkte Beziehungen zwischen relativer zentraler cholinolytischer Wirkung der Substanzen und dem Verteilungskoeffizienten Heptan/Wasser. Dem lipoidlöslichen Methylatropin und Methylskopolamin fehlt fast vollkommen die zentrale Wirkung. Aber auch innerhalb der Reihe der tertiären Amine bestehen große Unterschiede in der Lipoidlöslichkeit, die auch in der relativ

zentralen Wirksamkeit zum Ausdruck kommen.
Diese und weitere Ergebnisse wurden in seiner
Arbeit: „The importance of lipidsolubility
for the central action of cholinolytic drugs“
(HERZ A., TESCHEMACHER H., HOFSTETTER A. und
KURZ H.), - die im Int. Journal of Neuro-
pharmacology erscheinen soll - niedergelegt
und diskutiert.

Zusammenfassung.

Es war Aufgabe der vorliegenden Untersuchungen, die periphere cholinolytische Wirksamkeit einer größeren Reihe von Substanzen an der Ratte, möglichst unter Vermeidung einer Narkose, vergleichend zu untersuchen.

Es wurden zwei verschiedene Methoden angewandt:

1. Aufhebung der durch Carbaminoylcholin bewirkten Chromodykryorrhoe
2. Die Hemmung der durch Carbaminoylcholin ausgelösten Bradycardie.

Mit beiden Methoden war es möglich, durch geeignete Fixierung der Tiere ohne Narkose auszukommen.

Im Chromodykryorrhoe-Versuch wurden zur Auslösung der Tränensekretion 0,6 mg/kg Carbaminoylcholin i.p. injiziert; die zu testenden cholinolytisch wirksamen Substanzen wurden 30 Min. vorher s.c. appliziert und die Dosis ermittelt, welche bei der Hälfte der Tiere die Tränensekretion verhindert. Es wurde hierbei eine besondere Methode zur Abnahme der Tränen und Vergleich mit Standardflecken entwickelt, welche es gestattet, die Hemmung der Tränensekretion objektiv zu beurteilen. Bei der Auswertung der Ergebnisse nach Litchfield und Wilcoxon ergaben sich bei der Mehrzahl der Substanzen befriedigende Dosenwirkungsgeraden. Die ED₅₀ der geprüften Substanzen erstreckte sich über mehr als 4 Zehnerpotenzen. Am wirksamsten waren Hyoscyamin, Skopolamin und deren Methylderivate. Viel schwächer wirken synthetische

Substanzen, deren Mehrzahl als Antiparkinsonmittel Verwendung findet. Bei einigen dieser schwächer wirksamen Substanzen ergaben sich sehr flache Dosenwirkungsbeziehungen und bei einzelnen Substanzen war eine Erhöhung der Dosis sogar von einem Wiederauftreten der Tränensekretion begleitet. Es wird diskutiert, ob diese Substanzen in Abhängigkeit von der Dosis cholinolytische und cholinomimetrische Eigenschaften besitzen.

Für die Untersuchung der Hemmung der Carbaminoylcholin-Bradycardie wurde die Herzfrequenz elektrocardiographisch registriert. Bei einer Dosis von 0,6 Gamma/kg Carbaminoylcholin s.c. ergaben sich die günstigsten Streuungsverhältnisse. Die zu prüfenden Substanzen wurden 30 Min. vor Carbaminoylcholin s.c. verabfolgt und die Dosis ermittelt, bei der die Herzfrequenz von 142/Min. (nach alleiniger Verabfolgung von Carbaminoylcholin) auf 284/Min. ansteigt. Bei der Mehrzahl der geprüften Cholinolytika ergaben sich relativ steile Dosenwirkungsbeziehungen. Am wirksamsten waren, ähnlich wie bei der Hemmung der Chromodakryorrhoe Hyoscyamin, Skopolamin und deren Methylderivate. Bei einer Reihe der schwächer wirksamen Antiparkinsonsubstanzen waren keine eindeutigen Dosenwirkungsbeziehungen erkennbar oder es kam mit Erhöhung der Dosis sogar wieder zu einer Frequenzverlangsamung.

Nach alleiniger Verabfolgung von Carbaminoylcholin erreicht die Herzschlagverlangsamung schon 2 - 3 Min. nach s.c. Injektion ihr Maximum, um dann zunächst schnell - und 8 - 10 Minuten später - langsamer

rückgängig zu werden. Nach Verabfolgung von Reserpin erfolgt der Rückgang der Herzschlagverlangsamung viel zögernder. Es wird daraus geschlossen, daß dieser schnelle Rückgang, zumindest teilweise, auf Gegenregulation zurückzuführen ist, bei der adrenerge Mechanismus eine wesentliche Rolle spielen.

Die Verwendung der Carbaminoylcholin-Bradycardie erscheint für die Untersuchung der peripheren Wirksamkeit von Cholinolytika weniger geeignet als die Chromodakryorrhoe.

Die in den Chromodakryorrhoe-Versuchen gewonnenen Daten über die periphere Wirksamkeit der Cholinolytika wurden mit der zentralen cholinolytischen Wirkung dieser Substanzen verglichen; die daraus errechnete „relative“ zentrale cholinolytische Wirkung der Substanzen wurde mit dem Verteilungskoeffizienten Heptan/Wasser bei pH 7,4 in Beziehung gesetzt. Es zeigte sich eine enge Beziehung zwischen relativer zentraler cholinolytischer Wirkung und Verteilungskoeffizient.

Literaturverzeichnis

- ARIENS, E. J.: J. Pharmacol. 16, 137 (1964)
- ASHER, L.: Der Wirkungswandel neurovegetativer Arznei,
mittel, Bern (1941)
- BEIN, H.J. und J. TRIPOD:
Schweiz. Med. Wschr. 88, 1160 (1958)
- BRODIE, B.B., H. KURZ und L.S. SCHANKER:
J. Pharmacol. 130, 20 (1960)
- BULBERING, E. und G.S. DARVES: J. Pharmacol. 84, 177 (1945)
- BURGEN, A.S.V.: Brit. J. Pharmacol. 4, 185 (1949)
- CHEN, G.: J. Pharmacol. 124, 73 (1958)
- DERRIEN, E. und J. TURCHINI:
C.R. Soc. Biol. Paris 91, 637 (1924)
- ELMADJIAN, J. et al: Recent. Progr. Hormone Res. 14, 513 (1958)
- EULER v., U.C.: Science 132, 351 (1960)
- FARQUHARSON, M.E. und R.G. JOHNSTON:
Brit. J. Pharmacol. 14, 559 (1959)
- FIGGE, F.H.J.: Amer. Ass. Adv. Sci. Research Conference on Cancer
117 (1945)
- FIGGE, F.H.J. und R.H. DAVIDHEISER:
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96, 437 (1957)
Chem. Abstr. 4769 c (1958)
- FIGGE, F.H.J. und R.H. DAVIDHEISER:
Proc. Soc. Biol. Med. 103, 64 (1960)
Chem. Abstr. 54, 6912 f (1960)
- FIRMARK, H., C.F. BARLOW und L.J. ROTH:
Int. J. Neuropharmacol. 2, 25 (1963)
- FREUD, J.: Acta brev. neerl. Physiol. 3, 159 (1933)
- GADDUM J.H. und H. HOLBAUER: Vitam. and Horm. 15, 151 (1957)
- GYERMEK, L.: J. Pharmacol. 122, 29 A (1958)
- HANSSON, E. und C.G. SCHMITTERLÖW:
Arch. int. Pharmacodyn 131, 309 (1961)

HAWKINS, R. D. and J. M. GUNTER:

Biochem. J. 40, 192 (1946)

HAWKINS, R. D. and B MENDEL:

Brit.J.Pharmacol. 2, 173 (1947)

HERZ, A.: Arch.exp.Path. und Pharmak. 242, 414 (1962)

HERZ, A.: Int.J.Neuropharmacol. 2, 205 (1963)

HESS, W.R.: Regulierung des Blutkreislaufes, Leipzig (1930)

HURZ, H.: Experientia 20, 96 (1964)

KARCSMAR, A.G. und J.R. LONG: J. Pharmacol. 123, 230 (1958)

KOCH, E.: Die Selbststeuerung des Kreislaufes, Dresden (1933)

KLENKE, D.: Arzneimittelforschung 11, 571 (1961)

LITCHFIELD, J.T. und F.J. WILCOXON: J. Pharmacol. 96, 99 (1949)

MAY, R., M. RULAND and N. BYLENGO:

Schweiz.Arch.Neurologie und Psychiatrie 88, 61 (1961)

MAYER, S., R.P. MAICKEL und B.B. BRODIE:

J. Pharmacol. 127, 205 (1959)

MARK, L.C., I.I. BURNS, C. I. CAMPOMANES, S. H. NGAT, N. TROUSOF,

E.M.PAPPER and B.B. BRODIE: J.Pharmacol. 119, 35 (1957)

MENDEL, B. and R.D. HAWKINS: J. Neurophysiol. 6, 431 (1943)

MUSCHOLL, E.: Klin. Wschr. 37, 17 (1959)

MOLLER, K.O.: Lehrbuch der Pharmakologie (1961)

MULL, D.P., J.R. STABENAU and C.G. ZUBROD:

J. Pharmacol. 125, 185 (1959)

MAGE, J.H., R.D. TAYLOR and R. PRINCE:

Amer.J.Physiol. 159, 440 (1949)

MULEWKA, P.: Arch.exp.Path. und Pharmakol. 168, 307 (1932)

MÜHMANN, H.J. und KRONEBERG, G.:

Arch.Path.Pharmak. 231, 349 (1957)

MOLL, A. und E. JUNKER: Angew. Chem. 66, 376 (1954)

MOTONE, C.A., G. ENTWISLE and E.R. LOEW:

Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med. 78, 358 (1951)

MASHIRO, S., E. BADGER and W. YOUNKER: Proc.Soc.exp.Biol.N.Y. 45, 377 (1940)

MASHIRO, S., C.C. SMITH and E.KEZUR: Proc.Soc.exp.Biol.N.Y. 44, 658 (1940)

MILNBURY, M.M. und D. SCHMALGEMEIER; W.E. HAMBOURGER and D.A.JONSON:

J. Pharmacol. 95, 53 (1949).

LEBENS LAUF

Am 26. Juni 1938 wurde ich, Alfons Georg Hofstetter, als erstes Kind des Schuhmachermeisters Alfons Hofstetter und dessen Ehefrau Karolina, geb. Kellermann, in Burghausen a/d Salzach, geboren.

Von 1944 bis 1949 besuchte ich die Volksschulen Raitenhaslach und Burghausen. Im September 1949 trat ich in das humanistische Gymnasium zu Burghausen ein. Nach dem Tode meines Vaters im Jahre 1953 kam ich an das humanistische Gymnasium in Landshut, wo ich dann auch am 17. Juli 1958 das Zeugnis der Reife erhalten habe.

Im November 1958 immatrikulierte ich mich an der Universität München für das Studium der Human-Medizin. Nach einem Studium von elf Semestern - neun Semester Universität München, zwei Semester Universität Wien - legte ich im Sommer 1964 das medizinische Staatsexamen mit sehr gutem Erfolg ab.

Zur Zeit arbeite ich als Medizinalassistent im Kreis-krankenhaus Landshut-Achdorf, chirurgische Abteilung.

Herrn Privatdozent Dr. A. H e r z
danke ich für das stete Interesse und die Unterstützung
bei der Durchführung der Arbeit.

